

RADIOSENSITIZER

Patent number: JP62039525
Publication date: 1987-02-20
Inventor: KAGITANI TSUTOMU; others: 06
Applicant: ADEKA ARGUS CHEM CO LTD; others: 01
Classification:
- **international:** A61K31/41; A61K31/70
- **european:**
Application number: JP19850178549 19850815
Priority number(s):

Abstract of JP62039525

PURPOSE: To provide a low-toxic radiosensitizer containing a (novel) 4-nitro-1,2,3-triazole compound as an active component, and effective to promote the radio-inactivation of intractable hypoxic cell in malignant tumor.

CONSTITUTION: The compound of formula I or II [R is (R1-O)_nX1, -R2-CO-X2, -CH2-CO-CH2-X2, etc.; R1 is alkylene, alkenylene, etc.; X1 is H, alkyl, etc.; n is 1-5; R2 is alkylene, arylene, etc.; X2 is -OR3, etc.; R3 is H, alkyl, etc.] [e.g. 2-(4'-nitro-1'-triazolyl) acetic acid] is used as an active component of the objective agent. The compound of formula I or II remarkably increases the sensitivity of hypoxic cell to radiation and improves the effect of radiotherapy. It can be administered by any means, and the dose is preferably 20-10,000mg for oral agent, 0.5-10,000mg for injection and 20-10,000mg for suppository.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Patent Abstracts of Japan

⑫ 公開特許公報(A)

昭62-39525

⑮ Int.Cl.⁴

A 61 K 31/41

31/70

識別記号

ADU
AGZ

庁内整理番号

⑭ 公開 昭和62年(1987)2月20日

※審査請求 未請求 発明の数 1 (全9頁)

⑯ 発明の名称 放射線増感剤

⑰ 特 願 昭60-178549

⑱ 出 願 昭60(1985)8月15日

⑲ 発 明 者 鍵 谷 勤 京都市左京区吉田神楽岡町3番地の16
 ⑲ 発 明 者 皆 川 源 信 越谷市七左町1-207-3
 ⑲ 発 明 者 中 原 豊 岩槻市南下新井406-71
 ⑲ 発 明 者 木 村 凌 治 京都市左京区一乗寺弘殿町56 ハイムフロイデーン乗寺3
 F-C-8
 ⑲ 出 願 人 アデカ・アーガス化学 東京都荒川区東尾久8丁目4番1号
 株式会社
 ⑲ 出 願 人 日本触媒化学工業株式 大阪市東区高麗橋5丁目1番地
 会社
 ⑲ 代 理 人 山 口 剛 男
 最終頁に続く

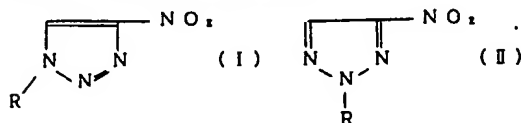
明 細 書

1. 発明の名称

放射線増感剤

2. 特許請求の範囲

次の一般式(I)又は(II)で表される4-ニトロ-1,2,3-トリアゾール化合物を活性成分として含有してなる、放射線増感剤。



(式中、Rは(R₁-O)_nX₁、-R₂-CO-X₂、-CH₂-CH-CH₂-CH₂-CH(OH)-CH₂-X₂、-CH₂-CO-CH₂-X₂又は糖類の残基を示す。

R₁はアルキレン基、アルケニレン基又はアルキニレン基を示し、X₁は水素原子、アルキル基又はアシル基を示し、nは1~5を示す。

R₂はアルキレン基、ヒドロキシアルキレン基又はアリーレン基を示し、X₂は-O-R₃又は-N(R₄)R₅を示す。

X₂はハロゲン原子、アシロキシ基、-O-R₃又は-N(R₄)-R₅を示す。

R₃は水素原子、アルキル基、ヒドロキシアルキル基、エーテル結合を有するアルキル基、ヒドロキシル基及びエーテル結合を有するアルキル基又は糖類の残基を示す。

R₄は水素原子、アルキル基、ヒドロキシアルキル基、エーテル結合を有するアルキル基またはヒドロキシル基及びエーテル結合を有するアルキル基を示し、R₅はR₄で表される基、または-R₆-N(R₇)R₈を示し、R₆はアルキレン基を示し、R₇及びR₈はR₄で表される基を示し、又、R₄とR₅又はR₇とR₈は互いに結合してアルキレン基またはオキサジアルキレン基を示してもよく、さらにR₄とR₇は互いに結合してアルキレン基を示してもよい。)

3. 発明の詳細な説明

本発明は放射線増感剤に関し、詳しくは、特定のニトロトリアゾール化合物を活性成分として含有してなる、悪性腫瘍中に存在する難治癌性低酸素細胞の放射線照射による不活性化を促進する放

射線増感剤に関する。

従来悪性腫瘍の治療法として、放射線治療法、外科治療法、化学治療法、免疫治療法等が用いられており、なかでも放射線治療法は長年に渡って利用されている効果的な治療法である。

しかしながら、放射線治療によっても治癒しない場合のあること、及び一旦は治癒しても腫瘍が再発する場合のあることが問題とされている。

この原因として、腫瘍組織自身の持つ放射線抵抗性及び酸素が欠乏した放射線抵抗性の細胞が腫瘍中に存在すること等があげられる。事実、放射線照射実験において、酸素を排除した雰囲気中の細胞は、酸素共存下の細胞の2～3倍も放射線に対して抵抗力を有することが知られている。

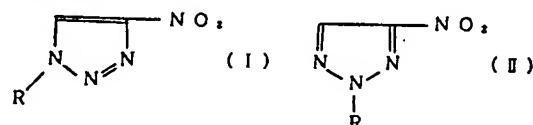
このような現状から、放射線に対する低酸素細胞の感受性を高める薬剤としての低酸素細胞増感剤は、放射線治療効果を向上させる極めて有効な手段としてその開発が強く要望されていた。

このような観点から、従来、いくつかの低酸素細胞増感剤が開発され、例えば、ニトロイミダゾール誘導体

がその代表的なものとして知られている。

しかしながら、ニトロイミダゾール誘導体の代表的な化合物の一つであるミソニダゾールは動物移植腫瘍実験において無添加時の約2倍の増感効果を示すが、神経毒性を有するため大量投与が困難であり、臨床応用可能な投与量で人体に適用した結果からは増感効果が認められていない。

本発明者等は、低毒性でより高い増感効果を奏する化合物を見出すべく鋭意検討を重ねた結果、次の一般式(I)又は(II)で表される特定の置換基を有する4-ニトロ-1,2,3-トリアゾール化合物が低酸素細胞の放射線に対する感受性を著しく増加させ、放射線治療の効果を増大させ得ることを見出した。



(式中、Rは $(\text{R}_1-\text{O})_n\text{X}_1$ 、 $-\text{R}_2-\text{CO}-\text{X}_2$ 、 $-\text{CH}_2-\underset{\text{O}}{\underset{|}{\text{CH}}}-\text{CH}_2$ 、

$-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{X}_2$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{X}_2$ 又は糖類の残基を示す。

R_1 はアルキレン基、アルケニレン基又はアルキニレン基を示し、 X_1 は水素原子、アルキル基又はアシル基を示し、 n は1～5を示す。

R_2 はアルキレン基、ヒドロキシアルキレン基又はアリーレン基を示し、 X_2 は $-\text{O}-\text{R}_3$ 又は $-\text{N}(\text{R}_4)\text{R}_5$ を示す。

X_3 はハロゲン原子、アシロキシ基、 $-\text{O}-\text{R}_3$ 又は $-\text{N}(\text{R}_4)-\text{R}_5$ を示す。

R_3 は水素原子、アルキル基、ヒドロキシアルキル基、エーテル結合を有するアルキル基、ヒドロキシル基及びエーテル結合を有するアルキル基又は糖類の残基を示す。

R_4 は水素原子、アルキル基、ヒドロキシアルキル基、エーテル結合を有するアルキル基またはヒドロキシル基及びエーテル結合を有するアルキル基を示し、 R_5 は R_4 で表される基、または $-\text{R}_6-\text{N}(\text{R}_7)\text{R}_8$ を示し、 R_6 はアルキレン基を示し、 R_7 及び R_8 は R_4 で表される基を示し、又、 R_4 と R_5 又は R_7 と R_8 は互

いに結合してアルキレン基またはオキサジアルキレン基を示してもよく、さらに R_4 と R_7 は互いに結合してアルキレン基を示してもよい。)

以下、本発明の特定の置換基を有するニトロトリアゾール化合物について詳述する。

上記化合物において、アルキル基としては、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、第二ブチル、アミル、ヘキシル、ヘプチル、オクチル、イソオクチル、2-エチルヘキシル等があげられ、ヒドロキシアルキル基としては、2-ヒドロキシエチル、2-ヒドロキシプロピル等があげられ、エーテル結合を有するアルキル基としては、メトキシエチル、エトキシエチル、ブトキシエチル、エトキシエトキシエチル等があげられ、ヒドロキシル及びエーテル結合を有するアルキル基としては、2-(2'-ヒドロキシエトキシ)エチル等があげられる。

アルキレン基としては、メチレン、エチレン、トリメチレン、1,2-プロピレン、テトラメチレン、ペンタメチレン、1,5-ヘキシレン、2,6-ヘプチレ

ン、ヘキサメチレン等があげられる。

オキサジアルキレン基としては、オキサジエチレン等があげられる。

アリーレン基としては、フェニレン等があげられる。

アシル基としては、アセチル、プロピオニル、ブチロイル、アクリロイル、メタクリロイル、ベンゾイル、トルオイル等があげられる。

糖類の残基としては、アラビノース、リボース、キシロース、フラクトース、ガラクトース、グルコース、マンノース、ソルボース、グルコヘプトース、ラクトース、マルトース、シュクロース、フラノース、リボフラノース、ラフィノース、スクチオーゼ、デキストリン、シクロデキストリン、グリコーゲン等の残基があげられる。

従って、本発明の前記一般式で表される化合物としては、2-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) 酢酸、2-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) 酢酸メチル、2-(4'-ニトロ-2'-トリアゾリル) 酢酸メチル、2-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) 酢酸エチル、2-(4'-

ニトロ-1'-トリアゾリル) 酢酸ヒドロキシエチル、2-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) 酢酸エトキシエチル、2-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) 酢酸ヒドロキシエトキシエチル、2-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) 酢酸グルコースエステル、2-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) 酢酸アミド、2-(4'-ニトロ-2'-トリアゾリル) 酢酸アミド、2-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) 酢酸モルホリド、2-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) 酢酸ジエチルアミド、2-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) 酢酸ブチルアミド、2-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) 酢酸-3'-ジメチルアミノプロピルアミド、2-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) 酢酸ジエタノールアミド、2-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) 酢酸エタノールアミド、2-(4'-ニトロ-2'-トリアゾリル) 酢酸エタノールアミド、2-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) 酢酸プロパノールアミド、2-(4'-ニトロ-2'-トリアゾリル) 酢酸プロパノールアミド、2-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) 酢酸-2'-メトキシエチルアミド、2-(4'-ニトロ-2'-トリアゾリル) 酢酸-2'-メトキシエチル

アミド、2-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) 酢酸-2'-モルホリノエチルアミド、2-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) 酢酸ビペリジド、2-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) 酢酸-4'-メチルビペラジド、3-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) プロピオン酸メチル、3-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) プロピオン酸エタノールアミド、3-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) プロピオン酸ジメチルアミド、3-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) プロピオン酸エチルアミド、3-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) プロピオン酸モルホリド、3-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) プロピオン酸-2'-ビペリジノエチルアミド、3-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) プロピオン酸-3'-モルホリノプロピルアミド、3-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) 乳酸メチル、1-(2',3'-エポキシプロピル)-4-ニトロトリアゾール、2-(2',3'-エポキシプロピル)-4-ニトロトリアゾール、1-(2',3'-ジヒドロキシプロピル)-4-ニトロトリアゾール、1-(2'-ヒドロキシ-3'-メトキシプロピル)-4-ニトロトリアゾール、2-(2'-ヒドロキシ-3'-メトキシプロピル)-

4-ニトロトリアゾール、1-(2'-ヒドロキシ-3'-エトキシプロピル)-4-ニトロトリアゾール、1-(2'-ヒドロキシ-3'-クロロプロピル)-4-ニトロトリアゾール、2-(2'-ヒドロキシ-3'-クロロプロピル)-4-ニトロトリアゾール、1-(2'-ヒドロキシ-3'-ジメチルアミノプロピル)-4-ニトロトリアゾール、1-(2'-ヒドロキシ-3'-ビペリジノプロピル)-4-ニトロトリアゾール、2-(2'-ヒドロキシ-3'-ビペリジノプロピル)-4-ニトロトリアゾール、1-(2'-ヒドロキシ-3'-モルホリノプロピル)-4-ニトロトリアゾール、2-(2'-ヒドロキシ-3'-モルホリノプロピル)-4-ニトロトリアゾール、1-(2'-ヒドロキシ-3'-アジリジノプロピル)-4-ニトロトリアゾール、2-(2'-ヒドロキシ-3'-アジリジノプロピル)-4-ニトロトリアゾール、1-(2'-ヒドロキシ-3'-(3'-ジメチルアミノプロピルアミノプロピル))-4-ニトロトリアゾール、1-(2'-ヒドロキシ-3'-アセチロキシプロピル)-4-ニトロトリアゾール、1-(2'-オキソ-3'-メトキシプロピル)-4-ニトロトリアゾール、1-(2'-オキソ-3'-ブチルアミノプロピル)-

4-ニトロトリアゾール、1-(2'-ヒドロキシエチル)-4-ニトロトリアゾール、1-(2'-ヒドロキシプロピル)-4-ニトロトリアゾール、1-(ヒドロキシメチル)-4-ニトロトリアゾール、1-(2'-アセチロキシエチル)-4-ニトロトリアゾール、1-(ヒドロキシエトキシエチル)-4-ニトロトリアゾール、1-(4'-メトキシ-2-ブチニル)-4-ニトロトリアゾール、1-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) グルコース、1-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) リボース、1-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) リボフラノース、2-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) リボフラノース、1-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) マルトース、等があげられる。

又、これらの化合物がアミノ基を有する場合は当然ながら酸付加塩であってもよく、この酸付加塩を形成する酸としては、例えば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸等の無機酸及び酢酸、プロピオン酸、シュウ酸、クエン酸、酒石酸、アジピン酸、乳酸、p-トルエンスルホン酸等の有機酸があげられる。

た。減圧下にメタノール及びトリエチルアミンを除去した後、残渣に水を加え、クロロホルムで抽出した。

硫酸マグネシウムで乾燥した後、脱溶媒し、淡黄色固体を得た。これを熱ベンゼンより再結晶し融点110~111℃の無色結晶1.2g(生成物A)を得た。

再結晶ろ液を濃縮後、展開溶媒としてベンゼン-酢酸エチル(9:1)を用い、シリカゲルクロマトグラフィーにより分離し、融点67~68℃の無色結晶1.3g(生成物B)を得た。

赤外分光分析(KBr法)の結果は次のとおりであった。

生成物A: 3120、1650、1560、1550、1520、1320、1300 及び1250 cm^{-1}

生成物B: 3100、1645、1540、1355、1300 及び1235 cm^{-1}

上記分析の結果から、生成物Aが2-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) 酢酸メチルであり、生成物Bが2-(4'-ニトロ-2'-トリアゾリル) 酢酸メチルで

これらの化合物のうちあるものは公知であり、又、あるものは新規化合物であるが、新規な化合物は、例えば、4-ニトロ-1,2,3-トリアゾールとハロカルボン酸エステル或いは不飽和カルボン酸エステルを反応させ、その後必要に応じて加水分解、エステル交換、アミド化等の操作により目的物を得る方法; エピハロヒドリンを反応させ、その後必要に応じてカルボン酸、アミン類あるいはアルコール類を付加することにより目的物を得る方法; アルキレンオキシサイドを付加し、その後必要に応じてアシル化する方法; 糖類を反応させる方法等により製造することができる。

次に、本発明の化合物を具体的な製造例を記すが、本発明はこれらの製造例によって限定されるものではない。

製造例1

2-(4'-ニトロトリアゾリル) 酢酸メチルの製造

4-ニトロ-1,2,3-トリアゾール3gをメタノール25mlに溶解し、トリエチルアミン8g及びブロム酢酸メチル6gを加え、還流下6時間攪拌し

あることが確認された。

製造例2

2-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) 酢酸メトキシエチルアミドの製造

2-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) 酢酸メチル1gを5mlのジオキサンに加え、メトキシエチルアミン2gを加え、100℃で1時間攪拌した。脱溶媒後、固化した残渣をクロロホルムより再結晶し、融点122~123℃の無色結晶を得た。

IR (KBr法): 3350、3120、1670、1560、1550、1520、1310 及び 1100 cm^{-1}

製造例3

2-(4'-ニトロ-2'-トリアゾリル) 酢酸メトキシエチルアミドの製造

2-(4'-ニトロ-2'-トリアゾリル) 酢酸メチル1gを用いる他は製造例2と同様にして、融点116~117℃の無色結晶を得た。

IR (KBr法): 3350、3150、1670、1575、1555、1355、1300 及び 1100 cm^{-1}

製造例4

2-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) 酢酸エタノールアミドの製造

2-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) 酢酸メチル 1 g, ジオキサン 5 ml 及びモノエタノールアミン 2 g をとり、100℃で1時間攪拌した。ジオキサン及び過剰のエタノールアミンを減圧下に溜去した後残渣をメタノール 10 ml に溶解し、イオン交換樹脂(ダウ社製: DOWEX 50W) 3 g を加え30分間攪拌した。

濾別後、メタノールを溜去し、エタノール/ジオキサンより再結晶し融点 129~130℃の無色結晶を得た。

IR (KBr法): 3470、3400、3300、3120、3080、1655、1560、1540、1520、1320、1300、1075 及び 1100 cm^{-1}

製造例5

2-(4'-ニトロ-2'-トリアゾリル) 酢酸エタノールアミドの製造

2-(4'-ニトロ-2'-トリアゾリル) 酢酸メチルを

を溜去し、黄色油状の生成物を得た。

展開溶媒としてクロロホルム-イソプロピルエーテルを用い、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより、第1成分として融点 73~74.5℃の白色結晶(生成物A)、第2成分として融点 83~84℃の白色結晶(生成物B)の2成分に分離した。

赤外分光分析の結果は次のとおりであった。

生成物A: 3400、3150、1540、1480、1390、1350、1300、1040 及び 830 cm^{-1}

生成物B: 3400、3150、1540、1510、1395、1300、1040 及び 830 cm^{-1}

上記分析の結果から、生成物Aが2-(2'-ヒドロキシ-3'-クロロプロピル)-4-ニトロ-1,2,3-トリアゾールであり、生成物Bが1-(2'-ヒドロキシ-3'-クロロプロピル)-4-ニトロ-1,2,3-トリアゾールであることが確認された。

製造例8

1-(2',3'-エポキシプロピル)-4-ニトロ-1,2,3-トリアゾールの製造

用いる他は製造例4と同様の操作により、融点

123~125℃の無色結晶を得た。

IR (KBr法): 3400、3350、3150、1665、1575、1560、1520、1310 及び 1210 cm^{-1}

製造例6

2-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) 酢酸プロパノールアミドの製造

エタノールアミンに代え、プロパノールアミンを用いる他は製造例4と同様の操作により、融点 147~148.5℃の無色結晶を得た。

IR (KBr法): 3400、3350、3150、1670、1560、1520、1310 及び 1050 cm^{-1}

製造例7

1-又は2-(2'-ヒドロキシ-3'-クロロプロピル)-4-ニトロ-1,2,3-トリアゾールの製造

4-ニトロ-1,2,3-トリアゾール 1 g、エピクロルヒドリン 5 g 及び無水炭酸カリウム 0.2 g をとり、100℃で20分間攪拌した。不溶物をろ別した後エタノールで洗浄した。ろ液を合わせ、減圧下にエタノール及び過剰のエピクロルヒドリン

1-(2'-ヒドロキシ-3'-クロロプロピル)-4-ニトロ-1,2,3-トリアゾール 1 g 及び10%水酸化ナトリウム水溶液 10 ml をとり、室温で15分間攪拌した。クロロホルム各 20 ml で3回抽出し、クロロホルムを合わせ、減圧下にクロロホルムを溜去し、黄色油状の生成物を得た。

水と活性炭を加え、60℃で20分間攪拌した後活性炭をろ別し、減圧下に水を溜去し無色油状の生成物 0.7 g を得た。このものは、静置することにより固化し、融点 48~48.5℃の白色固体を得た。

IR: 3150、1540、1510、1480、1400、1310、1260 及び 1130 cm^{-1}

製造例9

2-(2',3'-エポキシプロピル)-4-ニトロ-1,2,3-トリアゾールの製造

2-(2'-ヒドロキシ-3'-クロロプロピル)-4-ニトロ-1,2,3-トリアゾール 1 g を用いる他は製造例8と同様にして、黄色油状の生成物を得た。このものは、静置することにより固化し、融点 38~

38.5℃の白色固体を得た。

IR: 3150、1540、1480、1390、1350、1300、
1260 及び 1130 cm^{-1}

製造例 10

1-(2'-ヒドロキシ-3'-ビペリジノプロピル)-4-ニトロ-1,2,3-トリアゾール塩酸塩の製造

1-(2'-ヒドロキシ-3'-クロロプロピル)-4-ニトロ-1,2,3-トリアゾール 0.5g、ビペリジン 3g 及びテトラヒドロフラン 10ml をとり、還流下 1 時間攪拌した。減圧下にテトラヒドロフラン及び過剰のビペリジンを溜去し、残渣に 1% 水酸化ナトリウム水溶液 5ml を加え、クロロホルムで抽出した。

クロロホルムを減圧下に溜去し、水及び希塩酸を加え pH を 6.0 にし、クロロホルムで抽出した。

水層を減圧下に濃縮すると白色結晶を生じ、エタノール-イソプロピルアルコールより再結晶し、融点 140 ~ 141℃ の白色結晶を得た。

IR: 3250、2950、2750、2650、1540、1510、
1480、1380、1300、1110、1040 及び 830 cm^{-1}

キシ-3'-メトキシプロピル)-4-ニトロ-1,2,3-トリアゾールであり、生成物 B が 1-(2'-ヒドロキシ-3'-メトキシプロピル)-4-ニトロ-1,2,3-トリアゾールであることが確認された。

本発明の上記化合物は放射線治療における増感剤として有用であり、その投与量は腫瘍の種類及び化合物によっても異なるが、一般には、経口剤では 20~10000 mg、注射剤では 0.5~10000 mg、座剤では 20~10000 mg であり、最適投与量は、症状に応じた医師の判断に基づき、放射線の種類、照射線量、照射分割度等に応じて決定される。

また、本発明の化合物の投与形態には特に制約はなく、担体として薬学分野で通常使用されるものが使用でき、この分野で慣用されている手段に従って調製される。

以下に、本発明化合物の放射線増感効果を具体的な実施例によって示す。

実施例 - 1

V-79チャイニーズハムスター細胞における放射線増感効果をみるために、V-79細胞10万個をガラ

製造例 11

1-又は2-(2'-ヒドロキシ-3'-メトキシプロピル)-4-ニトロ-1,2,3-トリアゾールの製造

4-ニトロ-1,2,3-トリアゾール 1.5g、メチルグリシジルエーテル 7.5g 及び無水炭酸カリウム 0.3g をとり、還流下 20 分間攪拌した。不溶物をろ別した後エタノールで洗浄した。ろ液を合わせ、減圧下にエタノール及び過剰のメチルグリシジルエーテルを溜去し、黄色油状の生成物を得た。

展開溶媒としてクロロホルム/メタノール (0.3%) を用い、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより、第 1 成分として融点 58.2~59℃ の白色結晶 (生成物 A)、第 2 成分として無色オイル (生成物 B) の 2 成分に分離した。

赤外分光分析の結果は次のとおりであった。

生成物 A: 3400、3150、1540、1480、1450、1370、
1350、1300、1120~1070 及び 830 cm^{-1}

生成物 B: 3400、3150、1540、1510、1480、1400、
1300、1130~1080 及び 830 cm^{-1}

上記分析の結果から、生成物 A が 2-(2'-ヒドロ

スシャーレに単層で培養しておき、対数相の V-79 細胞を調製した。

所定濃度の供試化合物のメジウム溶液をシャーレに添加し、37℃ で 60 分間静置した後、室温で密閉容器に入れ、窒素ガスを 10 分間流して酸素を排除し、1.6 Gy/分の線量率で X 線を照射した。

照射後リン酸緩衝液で洗浄し、トリプシンで単細胞にした後、所定量を培養シャーレに入れ、メジウム 5ml を加え 37℃ で 7 日間培養し、染色後に水洗し、生じたコロニー数を測定した。

比較として、化合物を含まないメジウム溶液だけを加え、窒素下で照射したもの及び空気存在下で照射したものについても試験を行った。

これらの数値より、細胞の生存率を計算し、照射線量に対する生存率の対数をプロットすると直線関係が得られる。

この直線と、生存率が 1.0 なる水平直線の交点を求めて誘導期間線量: D_0 (Gy) を、直線の勾配から生存率を 1/10 に減少させるために必要な照射線量: D_1 (Gy) を求めた。

また、細胞を99.9%不活性化するために必要な照射線量($D_{0.1\%} = D_q + 3 D_{10}$)を求め、空气中照射の値($D_{0.1\%}$)との比($D_{0.1\%}/D_{0.1\%}$)及び窒素気流下照射の値との比($D_{0.1\%}/D_{0.1\%}$)を求め、それぞれ空気基準増感比(SARA数)及び窒素基準増感比(N_2 基準SARA数)と定義した。

得られた結果を第1表に示す。

実施例-2

EMT-6腫瘍細胞 10^5 個をBalb/C系雄マウス(8週令、一群4匹)の両足大腿皮下に接種した。腫瘍細胞接種後、腫瘍の大きさが直径1cm程に達した時点で供試化合物の生理食塩水溶液を腹腔内投与し(200mg/kg)、40分後に450rad/分でX線を照射し、照射5分後にマウスを殺した。

70%エタノールで全身滅菌した後に腫瘍部を切り取り、組織を細断しトリプシン22mlと混合し、50分間37℃で攪拌した。上澄み液を取り、細胞数を計測し、所定量を径5cmのプラスチックプレート上に撒き、メディウム5mlを加えた後炭酸ガス培養器で培養し、X線を照射していない細胞は9

日後に、X線を照射した細胞は10日後に培養器から出し、メタノールで細胞を固定し、ギムザ染色液で細胞を染色し、生じたコロニー数を計測する。

X線を照射しない細胞をコントロールとし、生存率を測定した。その結果を表-2に示す。

第 1 表

No	供 試 化 合 物	*1 濃度	*2 D _q	*2 D ₁₀	*2 D _{0.1%}	SARA数	N ₂ 基準 SARA数
参考例 1-1	なし (空气中存在下)	—	2.8	4.1	15.1	1.00	2.25
1-2	なし (窒素気流下)	—	6.4	9.2	34.0	0.44	1.00
実施例 1-1	2-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) 酢酸メチル	2.0	4.1	5.8	21.5	0.70	1.58
1-2	2-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) 酢酸メチル	10.0	3.9	5.4	20.1	0.75	1.69
1-3	2-(4'-ニトロ-2'-トリアゾリル) 酢酸メチル	2.0	3.7	5.1	19.0	0.79	1.79
1-4	2-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) 酢酸メトキシエチルアミド	2.0	5.2	5.7	22.3	0.68	1.52
1-5	2-(4'-ニトロ-1'-トリアゾリル) 酢酸メトキシエチルアミド	10.0	4.9	5.3	20.8	0.73	1.63
1-6	2-(4'-ニトロ-2'-トリアゾリル) 酢酸メトキシエチルアミド	2.0	4.5	6.4	23.7	0.64	1.43
1-7	2-(4'-ニトロ-2'-トリアゾリル) 酢酸メトキシエチルアミド	5.0	4.3	6.2	22.9	0.66	1.48